

Rec'd PCT/PTO 26 SEP 2005
PCT/JP 2004/004240

10.50998

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

25. 3. 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 3月25日
Date of Application:

出願番号 特願2003-083831
Application Number:
[ST. 10/C]: [JP 2003-083831]

出願人 生化学工業株式会社
Applicant(s):

REC'D 21 MAY 2004

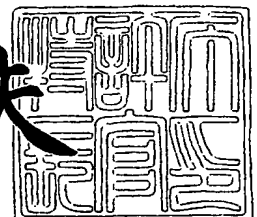
WIPO PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 4月28日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特2004-3036637

【書類名】 特許願
【整理番号】 J200300200
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61K 31/728

【発明者】

【住所又は居所】 東京都西多摩郡日の出町平井 2 5 1 2 - 3 2

【氏名】 加藤 忠彦

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県入間市大字仏子 7 6 9 番地 2 ダイアパレス 4 1
0

【氏名】 浅利 晃

【特許出願人】

【識別番号】 000195524

【氏名又は名称】 生化学工業株式会社

【代理人】

【識別番号】 100124512

【弁理士】

【氏名又は名称】 堀口 努

【電話番号】 03-3270-0465

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 062307

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0300379

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【整理番号】 J 200300200

【発明の名称】 神経障害処置剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 グルクロン酸及び／若しくは N-アセチルグルコサミンを少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩を有効成分とする、神経障害処置剤。

【請求項 2】 「グルクロン酸及び／若しくは N-アセチルグルコサミンを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」が、低分子量ヒアルロン酸である、請求項 1 に記載の処置剤。

【請求項 3】 「低分子量ヒアルロン酸」が、ヒアルロン酸 2 糖～ヒアルロン酸 2500 糖である、請求項 2 に記載の処置剤。

【請求項 4】 「低分子量ヒアルロン酸」が、ヒアルロン酸 2 糖～ヒアルロン酸 50 糖である、請求項 3 に記載の処置剤。

【請求項 5】 低分子量ヒアルロン酸が、ヒアルロン酸 4 糖である、請求項 4 に記載の処置剤。

【請求項 6】 神経障害が、脊髄損傷又は神経の外傷によるものである、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の処置剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、グルクロン酸及び／若しくは N-アセチルグルコサミンを少なくとも構成糖とする低分子量の糖（特に、低分子量ヒアルロン酸）又はその薬学的に許容される塩を有効成分とする、神経障害処置剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

まず、本明細書において用いる略号を説明する。

【0003】

G l c N A c : N-アセチルグルコサミン

G l c A : グルクロン酸

H A : ヒアルロン酸

P B S : リン酸緩衝生理食塩液

S C E P : 脊髄誘発電位

特許文献 1 には、H A またはその薬学的に許容される塩を含有する水性溶液からなる脊髄灌流液が開示されており、この灌流液は脊髄損傷における脊髄灌流療法に用いることができる旨が記載されている。そして、H A の重量平均分子量の例示として 50 万～400 万のものが記載されている。

【0004】

【特許文献 1】

特開平 11-140103 号公報

しかし、G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖（特に低分子量 H A）を用いることについては開示も示唆もなく、従って、このような低分子量の糖がさらに優れた効果を奏することについての開示も示唆もない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖（特に低分子量 H A）又はその薬学的に許容される塩を有効成分とし、安全で有用な神経障害処置剤を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは上記課題を解決するために鋭意検討を行った結果、G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖（特に低分子量 H A）が、神経障害、特に脊髄損傷に対して極めて優れた効果を発揮することを見出し、これにより上記課題を解決する神経障害処置剤を提供して、本発明に至った。

【0007】

すなわち本発明は、G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖

とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩を有効成分とする、神経障害処置剤（以下、本発明処置剤という）を提供する。

【0008】

ここにいう「GlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」は、低分子量HAであるものが好ましい。また「低分子量HA」はHA2糖～HA2500糖であるものが好ましく、HA2糖～HA50糖であるものがより好ましく、HA4糖であるものが特に好ましい。

【0009】

また、本発明処置剤は、脊髄損傷又は神経の外傷に対する処置剤であることが好ましい。

【0010】

【発明の実施の形態】

<1>本発明処置剤の有効成分

(1) GlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩

本明細書において「GlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」には、「GlcAを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」、「GlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」及び「GlcAとGlcNAcとを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」が含有される。そして「GlcAを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」には単糖としての「GlcA」も包含され、「GlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」には単糖としての「GlcNAc」も包含される。

【0011】

GlcAはD-グルクロン酸であることが好ましく、GlcNAcはN-アセチル-D-グルコサミンであることが好ましい。

【0012】

このような「GlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」としては低分子量HAが好ましい。

【0013】

本明細書において「低分子量HA」とは、HAの構成二糖組成と同様の組成からなる低分子量の糖鎖である。具体的は、GlcAとGlcNAcとが交互にグリコシド結合している低分子量の糖鎖を意味する。

【0014】

そしてこのような低分子量の糖鎖である限りにおいて、当該糖鎖の非還元末端がGlcAであるものの他、非還元末端がGlcNAcであるものも、ここでいう「低分子量HA」に包含される。なかでも、非還元末端に位置する単糖がGlcAであるものが好ましい。また、その還元末端に位置する単糖はGlcNAcであるものが好ましい。

【0015】

非還元末端に位置する単糖は、飽和糖(単糖中の炭素・炭素間の結合に二重結合を含まないもの)でも不飽和糖(単糖中の炭素・炭素間の結合に二重結合を含むもの)でもよい。なかでも非還元末端に位置する単糖が飽和糖であるものが好ましい。

【0016】

本明細書において「低分子量」とは、当技術分野(特にグリコサミノグリカンに関する技術分野)における当業者において、低分子量であると認識される程度の分子量を意味する。少なくとも、重量平均分子量が1000kDを超えるものについては、当技術分野において「低分子量」とであると認識されるものではない。

【0017】

「低分子量HA」としてはHA2糖～HA2500糖が好ましく、HA2糖～HA2000糖がより好ましく、HA2糖～HA1500糖がさらに好ましく、HA2糖～HA1000糖がさらにより好ましく、HA2糖～HA500糖が特に好ましく、HA2糖～HA250糖が非常に好ましく、HA2糖～HA100糖が極めて好ましい。そのなかでもHAオリゴ糖が極めて好ましい。

【0018】

ここで「オリゴ糖」とは、当技術分野における当業者において、オリゴ糖であると認識される程度の糖鎖を意味する。例えば「HAオリゴ糖」としては、HA

2糖～HA50糖が例示されるが、HA2糖～HA30糖が好ましく、HA2糖～HA20糖がより好ましく、HA2糖～HA10糖がさらに好ましく、HA4糖がさらにより好ましい。

【0019】

GlcAとGlcNAcとの間におけるグリコシド結合は β 1 \rightarrow 3結合であることが好ましく、GlcNAcとGlcAとの間におけるグリコシド結合は β 1 \rightarrow 4結合であることが好ましい。

【0020】

本発明処置剤において用いることができる「GlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩」の由来は特に限定されない。例えば、このような糖鎖として低分子量HAを用いる場合には、鶏冠、臍帯、HAを産生する微生物等から分離、精製されたHAを分解する方法（例えば酵素分解法、化学分解法、加熱処理法、超音波処理法等）や、合成（例えば化学合成法や酵素合成法）によって製造できる。

【0021】

酵素分解法としては、ヒアルロニダーゼ(睾丸由来)、ヒアルロニダーゼ(Streptomyces由来)、ヒアルロニダーゼSD、コンドロイチナーゼACI、コンドロイチナーゼACII、コンドロイチナーゼACIII、コンドロイチナーゼABCなどの、HAを分解する酵素をHAに作用させる方法が挙げられる(新生化学実験講座「糖質II—プロテオグリカンとグリコサミノグリカン—」p244-248、1991年発行、東京化学同人 参照)。低分子量HAを得るためには、HAを分解する酵素として加水分解酵素を用いることが好ましい。

【0022】

化学分解法としては、アルカリ分解法やDMSO法等が挙げられる。アルカリ分解法は、例えばHAの溶液に1N程度の水酸化ナトリウム等の塩基を加え、数時間加温して低分子化させた後、塩酸等の酸を加えて中和することにより行うことができる。DMSO法としてはNagasawaらの方法(Carbohydr. Res., 141, p99-110, 1985)が挙げられる。超音波処理法としては Biochem., 33, p6503-6507 (1994)等に記載された方法が挙げられる。

【0023】

合成による製造方法としては Glycoconjugate J., p453-439 (1993)、国際公開W093/20827等に記載された方法が挙げられる。

【0024】

以上のような方法によって低分子量HAを含む画分が得られるが、この画分は通常の糖鎖の分離、精製の手法によってさらに精製することができる。例えば、吸着クロマトグラフィー、陰イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、ゲル濾過法、ゲル浸透クロマトグラフィー、濾紙電気泳動法、濾紙クロマトグラフィー、有機溶媒による分画、あるいはこれらの組み合わせ等の操作によって行うことができるが、これらに限定されるものではない。

【0025】

このような方法によって画分中の低分子量HAの含有率を高めることができ、また医薬として混入が許されない物質を排除することもできる。

【0026】

このようにして得られる低分子量HAは、高純度に精製され、医薬として混入が許されない物質を実質的に含まないものが好ましい。

【0027】

GlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖の薬学的に許容される塩としては、例えば、アルカリ金属塩（ナトリウム塩、リチウム塩、カリウム塩等）、アルカリ土類金属塩、アンモニウム塩等の無機塩基との塩、またはジエタノールアミン塩、シクロヘキシルアミン塩、アミノ酸塩等の有機塩基との塩のうち、薬学的に許容される塩を用いることができる。なかでもナトリウム塩であることが好ましい。

【0028】

上記のようなGlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩を用いることにより、極めて優れた薬理作用を有する神経障害処置剤とすることができる。

【0029】

なお、本発明処置剤に使用されるGlcA及び／若しくはGlcNAcを少な

くとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩中のエンドトキシン濃度は、本発明処置剤を液剤とした場合において 0.3 EU/mL 以下、液剤以外の剤とした場合においては前記液剤のエンドトキシン含量に相当する量以下であることが好ましい。本発明処置剤中のエンドトキシン濃度は、当業者に周知慣用のエンドトキシンの測定法を用いて測定することができるが、カプトガニ・アメボサイト・ライセート成分を用いるリムルス試験法が好ましい。なお EU (エンドトキシン単位) は、日本工業規格生化学試薬通則 (JIS K8008) に従って測定・算出できる。また、鉄含量は 20 ppm 以下であることが好ましい。

(2) 本発明処置剤の剤型等

本発明処置剤の投与方法は、本発明処置剤による神経障害に対する作用が発揮される限りにおいて特に限定されないが、例えば注射 (硬膜内、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、腹腔内等)、経鼻、経口、経皮、吸入等の投与経路が挙げられる。その投与方法は、注射による特定部位への直接投与や、点滴による投与など、適用される疾患や部位等によって適宜選択される。硬膜内等に投与する場合には、植込み型の薬剤注入ポンプを体内に植え込んで、持続投与してもよい。

【0030】

このような投与経路や投与方法に応じて、低分子量 HA 又はその薬学的に許容される塩を適宜製剤化して、本発明処置剤とすることができる。剤型としては、注射剤 (溶液、懸濁液、乳濁液、用時溶解用固形剤等)、錠剤、カプセル剤、液剤、顆粒剤、散剤、リポ化剤、軟膏剤、硬膏剤、ローション剤、パスタ剤、貼付剤、ゲル剤、坐剤、外用散剤、スプレー剤、吸入散剤等が挙げられるが、注射剤等の液剤の形態とすることが好ましい。

【0031】

液剤は、例えば適当な水性溶媒あるいは医薬品に慣用される溶媒に、GlcA 及び/若しくは GlcNAc を少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩を溶解させることにより製造することができる。このような溶媒としては、蒸留水、緩衝液、生理食塩水、水混和性有機溶媒を含む水等が例示される。

【0032】

本発明処置剤を注射剤として提供する場合、その形態は、溶液、凍結物、または凍結乾燥物のいずれであってもよい。これをアンプル、バイアル、注射用シリンジ等の適当な容器に充填・密封し、そのまま流通させあるいは保存して、注射剤として投与することができる。

【0033】

本発明処置剤の製剤化には公知の方法を用いることができる。また製剤化にあたり、G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩に悪影響を与えず、かつ本発明の効果に影響を与えない限りにおいて、他の医薬活性成分（例えば抗炎症剤、鎮痛剤、ビタミン剤、抗菌剤、成長因子、接着因子など）や、慣用の安定化剤、乳化剤、浸透圧調整剤、pH調整剤、緩衝剤、等張化剤、保存剤、無痛化剤、着色剤、賦形剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤等、通常医薬に用いられる成分を使用できる。

【0034】

本発明処置剤は、G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩を有効成分とすることから、少なくとも G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩が含有されていればよく、他の分子サイズや種類の糖を含んでいても差し支えない。

(3) 本発明処置剤の投与対象等

本発明処置剤は、神経障害の処置に資せんとするものであるから、神経障害に対する処置が望まれる状況にある動物に対して適用することができる。

【0035】

「神経障害に対する処置が望まれる状況」は、特に限定されるものではないが、例えば脊髄損傷や頭部外傷などの神経の外傷、脳性（小児）麻痺、脊髄血管障害、頸部脊椎症、老人性痴呆、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄小脳変性症（遺伝性痙性対麻痺）等が例示される。なかでも脊髄損傷や神経の外傷に対して適用されることが好ましく、脊髄損傷に対して適用されることがより好ましい。脊髄損傷としては、外傷性脊髄損傷、脊椎変性疾患（脊椎症等）、脊椎炎症

性疾患（脊椎炎、慢性関節リウマチ等）、腫瘍（脊髄腫瘍、脊椎腫瘍等）、血管性疾患（脊髄出血、脳卒中、髄外血管障害による脊髄麻痺等）、脊髄炎（クモ膜炎、ウイルス性脊髄炎、細菌性脊髄炎等）、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症等が挙げられる。特に外傷性脊髄損傷に有効である。

【0036】

すなわち、本発明処置剤は、脊髄損傷や神経の外傷に対する処置剤であることが好ましく、脊髄損傷に対する処置剤であることがより好ましく、外傷性脊髄損傷に対する処置剤であることが特に好ましい。

【0037】

本発明処置剤を動物に投与する場合、これが投与される動物は、脊椎動物、特に哺乳動物が好ましい。本発明処置剤による「処置」の目的も特に限定されないが、神経障害の進行抑制（悪化防止）、症状の改善、治療等を目的とすることができる。

【0038】

本発明処置剤における G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩の配合量、1回あたりの投与量、投与間隔等は、本発明処置剤の投与方法、投与形態、使用目的等、患者の具体的症状、年齢、性別、体重等に応じて個別に決定されるべき事項であり、特に限定されないが、G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩の臨床量として成人1人1回当たり 100 μ g ~ 1000 mg が例示される。

【0039】

また本発明処置剤の投与間隔は、1日1回程度でもよく、1日2～3回に分けて投与することもできる。また、前記のような植込み型の薬剤注入ポンプ等を用いて持続的に投与することもできる。

【0040】

なお本発明は、本発明処置剤だけでなく、神経障害に対する処置が望まれる適用対象に G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩を作用させることを特徴とする、神経障害

の処置方法も包含する。

【0041】

【実施例】

以下に、本発明の実施例を具体的に説明する。しかしながら、これらにより本発明の技術的範囲が限定されるものではない。

<材料等>

まず、本実施例において用いた物質等を説明する。

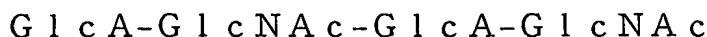
試薬等

GlcA及び／若しくはGlcNAcを少なくとも構成糖とする低分子量の糖として、低分子量HAを用いた。

【0042】

低分子量HAは、生化学工業株式会社から提供されたものを用いた。この低分子量HAは、以下の構造を有し、以下の性質を有するものであった（カッコ内は、本実施例において用いる略号を示す。下記式中、「-」はグリコシド結合を表す。）

・HA飽和4糖（以下、「HA4」という。）



HA4は、Nagasawaらの方法(Carbohydr. Res., 141, p99-110, 1985)に準じて、HClを含有するDMSOでHAを処理して得られた分解産物を、陰イオン交換クロマトグラフィーでサイズごとに分画することによって得た。

【0043】

HA4は、以下の薬効薬理試験に応じて所定の濃度となるようにPBSに溶解して用いた。PBSに溶解した後のエンドトキシン濃度はいずれも0.3 EU/mL以下であり、また鉄含量はいずれも20 ppm以下であった。

<薬効薬理試験> 脊髄損傷に対するHA4の作用

(1) 脊髄損傷モデルの作製およびHA4の投与 (Fig. 1, 2)

本試験の模式図を図1に示す。

動物はペントバルビタール(50mg/kg体重)の麻酔下に、頸部から臀部にかけて電気バリカンで剪毛し、70%エタノールおよびイソジン(明治製菓株式会社

製)で清拭した。背部皮膚を切開し、T5からT10胸椎を露出させた後、第六胸椎(T6胸椎)を半椎弓切除し、硬膜に小切開を加え、キシロカイン(アストラゼネカ製)で局所麻酔した後、T6の位置でスパーテル(先端を0.3mmに加工したもの)を背側から椎体に届くまで刺入して10秒間保持することによって脊髄を坐滅させたもの(軽度損傷モデル)と、ピンセット(先端を0.3mmに加工したもの)をその先端が椎体に届くまで刺入して両側から10秒間はさむことによって脊髄を坐滅させたもの(強度損傷モデル)の2種類のモデルを作製した。それぞれのモデルの損傷の程度を図2に示す。

【0044】

損傷後、直ちにHA4(6 μ l)をマイクロシリンジ(25 μ l;株式会社伊藤製作所製)を用いて硬膜内に投与した。その後、HA4を充填した浸透圧ポンプ(モデル1002, Alzet製)に接続したチューブの先端(OD:0.3mm)を損傷部頭部側の硬膜下に留置し、HA4を7日間持続投与した。また、陽性対照としてコハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム(MPSS、ファルマシア社製)30mg/kgを、損傷後5分目、2時間目、4時間目および6時間目に尾静脈内投与した。損傷部と周囲組織の隔離のために、ゼラチンスポンジ(Gelform;ファルマシア社製)を置き、創部を縫合し、飼育ケージに戻した。

【0045】

本試験の群構成は以下の通りである。

1. 軽度損傷モデル:

- (1)無損傷・無処理群
- (2)PBS投与群(生食群)
- (3)HA4 60 μ g/匹/日投与群

2. 強度損傷モデル:

- (1)無損傷・無処理群
- (2)PBS投与群(生食群)
- (3)メチルプレドニゾロン(MPSS)30mg/kg体重/日 x 4回投与群
- (4)HA4 0.6 μ g/匹/日投与群
- (5)HA4 6.0 μ g/匹/日投与群

(2) 一般状態の評価

試験物質を投与した後、一般状態の観察を行った。その結果、PBS投与群では投与7日目においても歩行困難が観察されたが、HA4投与群ではほぼ正常と同様の歩行が観察された。

(2) HA4の脊髄誘発電位 (SCEP) に与える影響

脊髄誘発電位は脊髄損傷後7日目に測定した。ハロセン麻酔（導入時4.0%、維持時1.0%）下で気管内挿管し、筋弛緩剤で非動化し、腹臥位に頭部を固定して人工呼吸器により維持した。第2/3頸椎間および第13胸椎/第1腰椎間からカテーテル電極を挿入し、筋電計（Powerpoint；ダンテック社製）を用いて、最大上刺激（刺激頻度：1 Hz、持続期間：0.05ミリ秒）し、脊髄誘発電位（SCEP）を測定し、「平均値±SD」を算出した。得られた電位の評価は、第1電位の振幅を指標とした。軽度損傷モデルにおける結果を図3に、強度損傷モデルにおける結果を図4にそれぞれ示す。図中の「Non-injury Non-treatment」は「無損傷・無処理群」を、「P.Saline」は「生食群」をそれぞれ示す。また図中の「*」は、生食群に対して $p<0.05$ で有意差があることを示す（Dunnettの多重比較検定）。

【0046】

その結果、軽度損傷モデルにおいては、PBS投与群と比較して、HA4 60 μ g/匹/日投与群において有意なSCEP振幅の低下抑制あるいは回復（ $p<0.05$ ）が認められた。このレベルは、正常レベル（無損傷・無処理群）と同等であった（図3）。強度損傷モデルでは、PBS投与群と比較して、HA4 0.6 μ g/匹/日および6 μ g/匹/日投与群でいずれも有意なSCEP振幅の低下抑制あるいは回復がみられ（それぞれ、 $p<0.05$ 及び $p<0.001$ ；正常レベルと同等）、6 μ g/匹/日投与群ではMPS Sより強い効果が認められた（図4）。

(3) 病理組織学的見地からの評価（軽度損傷モデル）

損傷部位を中心として約2cm長の脊髄を中性緩衝ホルマリンで固定した後、パラフィンに包埋した。背側からcoronalな面の連続切片を作製し、クリューラバレラ染色（ミエリンが青に染まる）を行った。中心管を含む位置の組織標本にて、(a)傷害部位領域および(b)白質-灰白質を横断する軸索（T6で入出する軸索

）を観察した。PBS投与群における結果を図5に、HA4を投与した群における結果を図6に示す。

【0047】

その結果、PBS投与群において、組織傷害領域は、損傷を加えた部位（損傷部位）のみならず、損傷部位から1cm以上も離れた白質においても浮腫、ミエリンの脱落が認められた（図5）。この白質における組織傷害は、連続的あるいは、飛び石状を呈していた（図5）。HA4を投与した群では、組織障害は損傷部位近傍に限定されており、白質における浮腫・ミエリンの脱落はまれにしか認められなかった（図6）。

【0048】

図7に示す通り、coronalの中心管を含む面において、両側及びrostral、caudalの遠位端の傷害部位4点を結ぶ四角形（図7中の太線内）を「傷害エリア」として傷害された広さを測定した。その結果、HA4を投与した群では、PBS投与群に比して有意な低値を示した（図8）。

また、白質～灰白質を横断（交差）する軸索の本数（損傷部位のrostral/caudal方向5mmの範囲）を測定したところ、その軸索数は、生食群に比べHA4投与群において有意に多数であった（図9、図10）。

【0049】

以上の結果から、HA4投与による脊髄誘発電位の低下の抑制あるいは回復が示された。このことは、HA4が脊髄損傷による神経機能の低下抑制あるいは回復をもたらす作用を有していることを示している。事実、HA4を投与した群では歩行異常が認められないか、認められたとしても軽度であった。

【0050】

病理組織学的評価においても、HA4投与群では組織傷害が抑制されており、HA4の神経機能への作用が、この組織傷害抑制と結びついていることが示唆される。特にHA4によるミエリンの脱落の抑制（2次損傷における脱髄抑制）および軸索数の減少（損傷による神経細胞あるいはオリゴデンドロサイトのアポトーシスによって消失したものと考えられる）の抑制は、HA4による神経機能の低下抑制に深く関与していることを示している。

【0051】

また、動物を用いた上記試験の結果によって、本発明処置剤の安全性が裏付けられた。

【0052】

以上の結果から、「G l c A 及び／若しくは G l c N A c を少なくとも構成糖とする低分子量の糖」である「低分子量 H A」（特に H A 4）又はその薬学的に許容される塩は、神経障害（特に神経の外傷によるもの。特に脊髄損傷。）の処置に極めて有用であり、しかも安全性が高いことが示された。

【0053】

【発明の効果】

本発明処置剤は、神経障害、特に脊髄損傷や神経の外傷による神経障害に対して優れた効果を発揮し、しかも安全性が高いことから極めて有用である。

【0054】

【図面の簡単な説明】

【図1】 薬効薬理試験の模式図を示す。

【図2】 軽度損傷モデルと強度損傷モデルにおける損傷の程度を示す図である。

【図3】 H A 4 を投与した場合の、軽度損傷モデルにおける S C E P の測定結果を示す図である。

【図4】 H A 4 を投与した場合の、強度損傷モデルにおける S C E P の測定結果を示す図である。

【図5】 P B S 投与群における傷害部位領域の観察結果を示す図である。

【図6】 H A 4 を投与した群における傷害部位領域の観察結果を示す図である

【図7】 傷害領域の測定方法の模式図である。

【図8】 H A 4 を投与した場合の、「傷害エリア」の測定結果を示す図である。

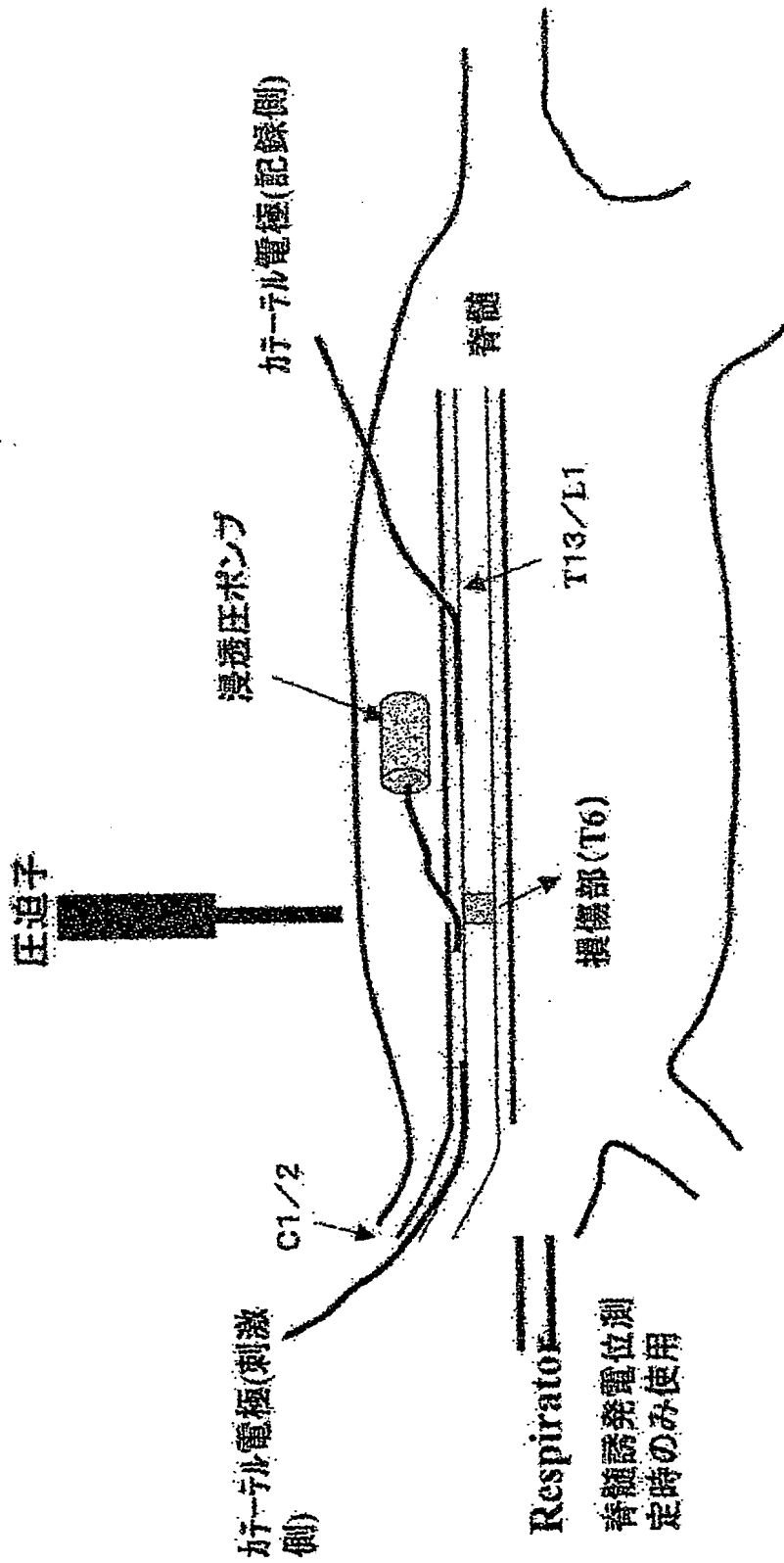
【図9】 白質～灰白質の横断部分の観察結果を示す図である。

【図10】 白質～灰白質を横断（交差）する軸索の本数の測定結果を示す図である。

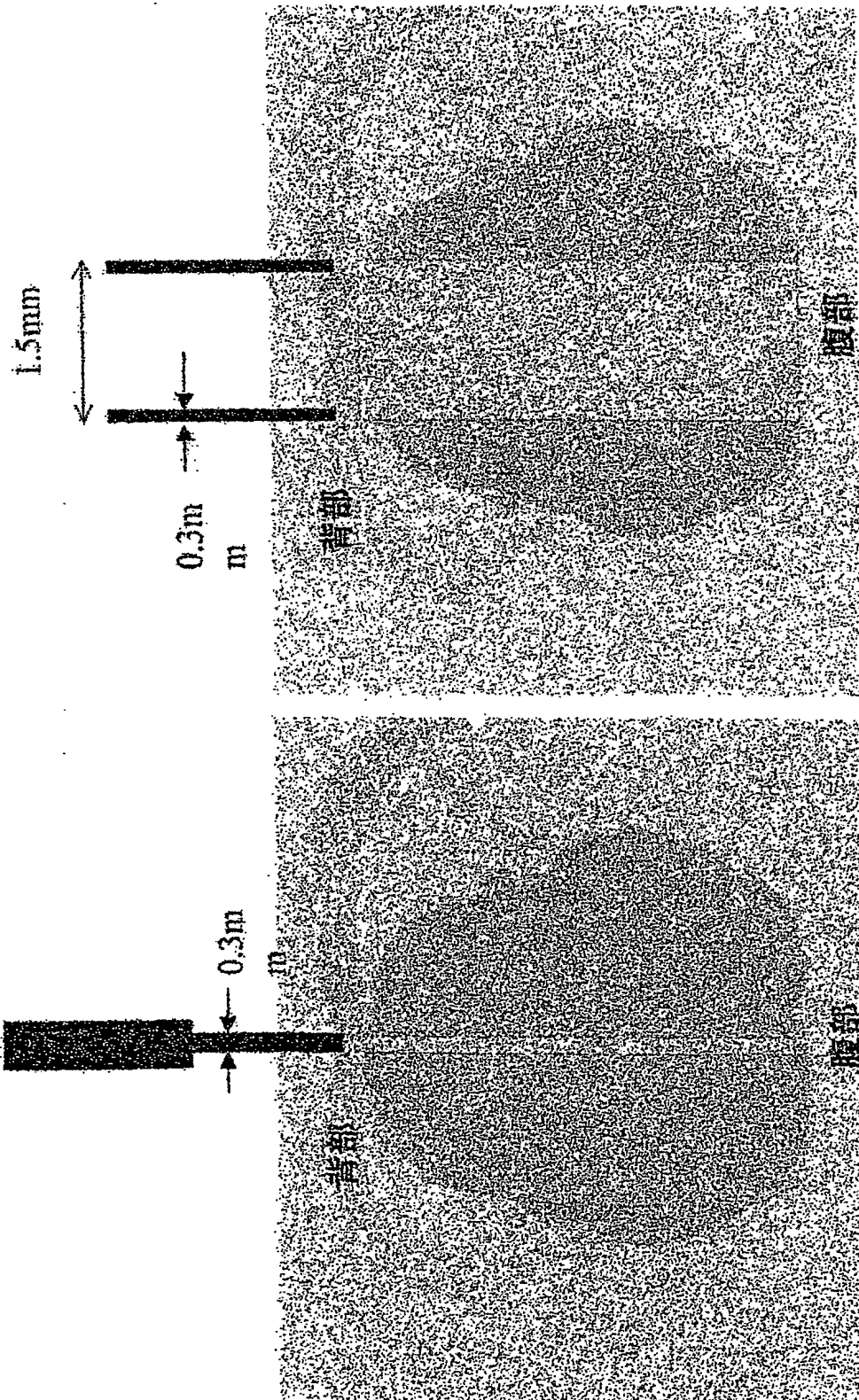
【書類名】

図面

【図1】



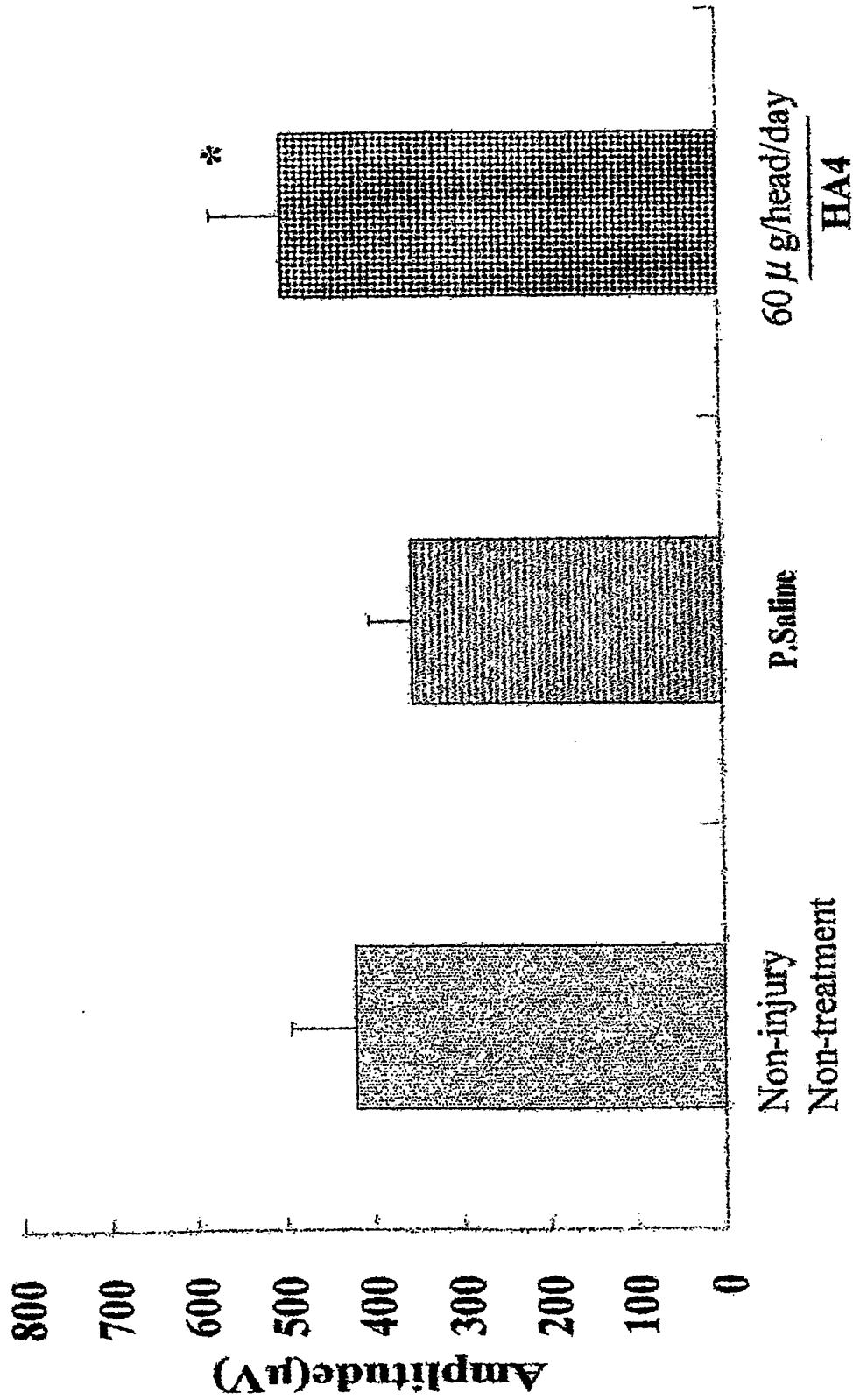
【図 2】



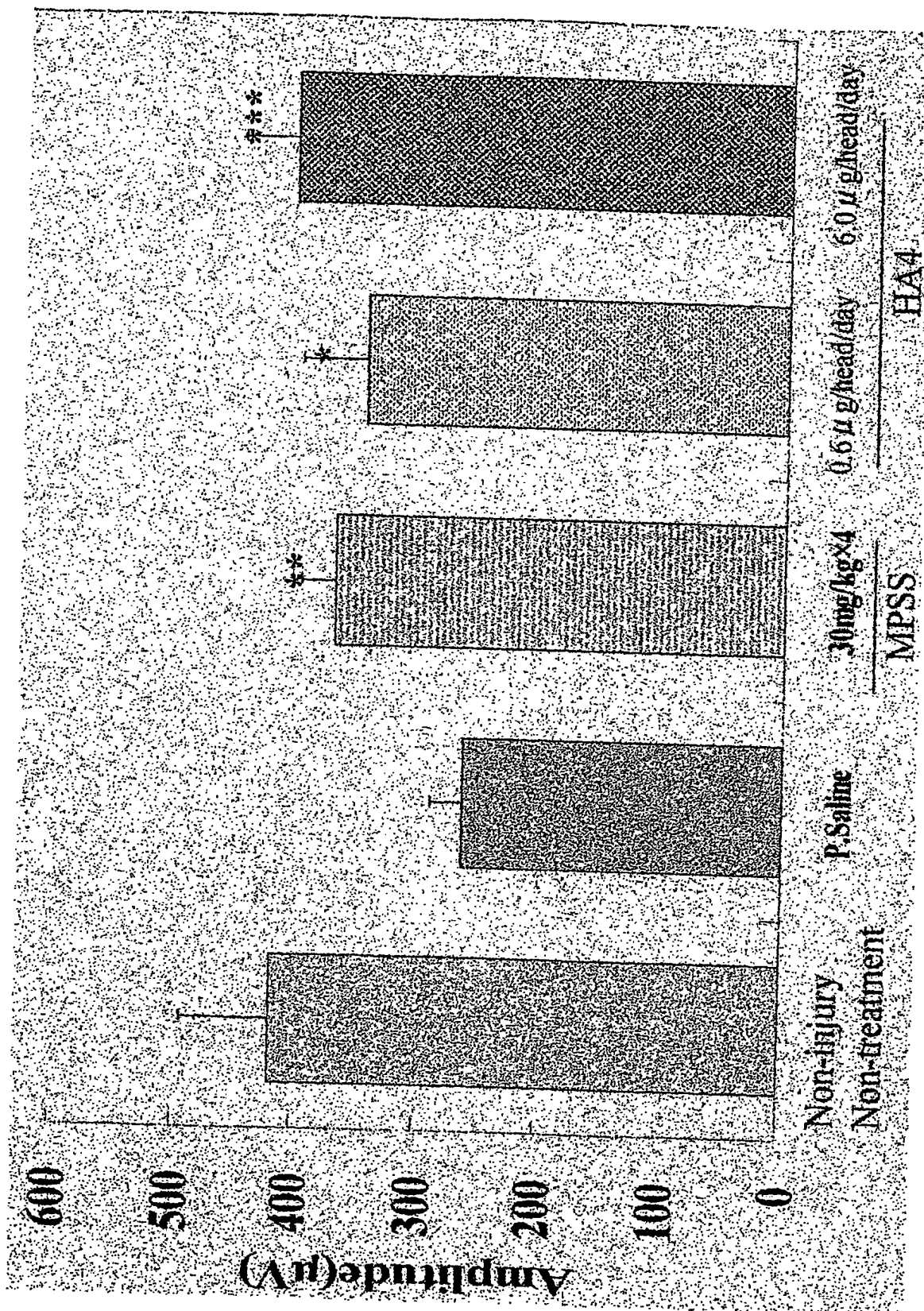
強度損傷

軽度損傷

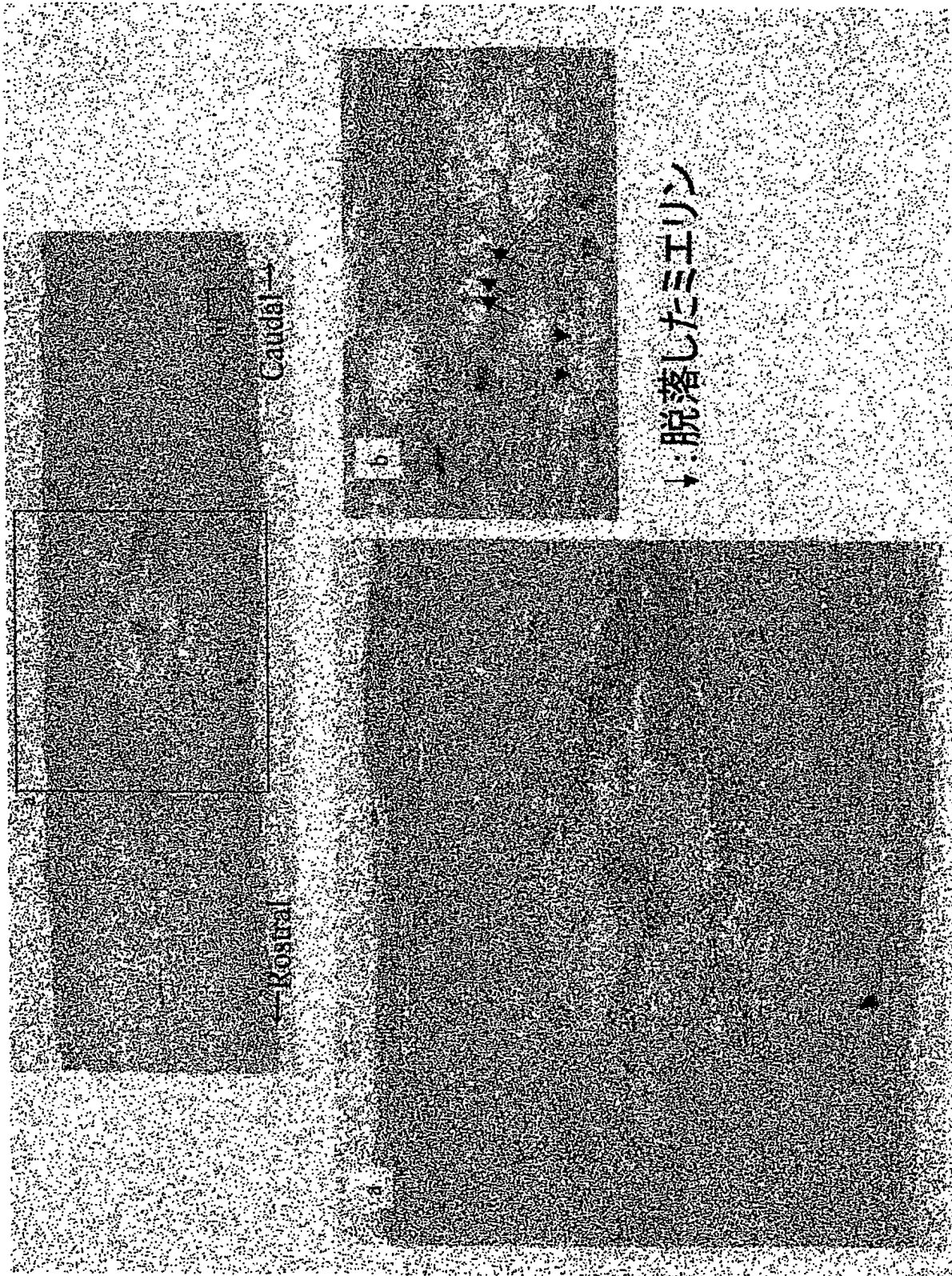
【図 3】



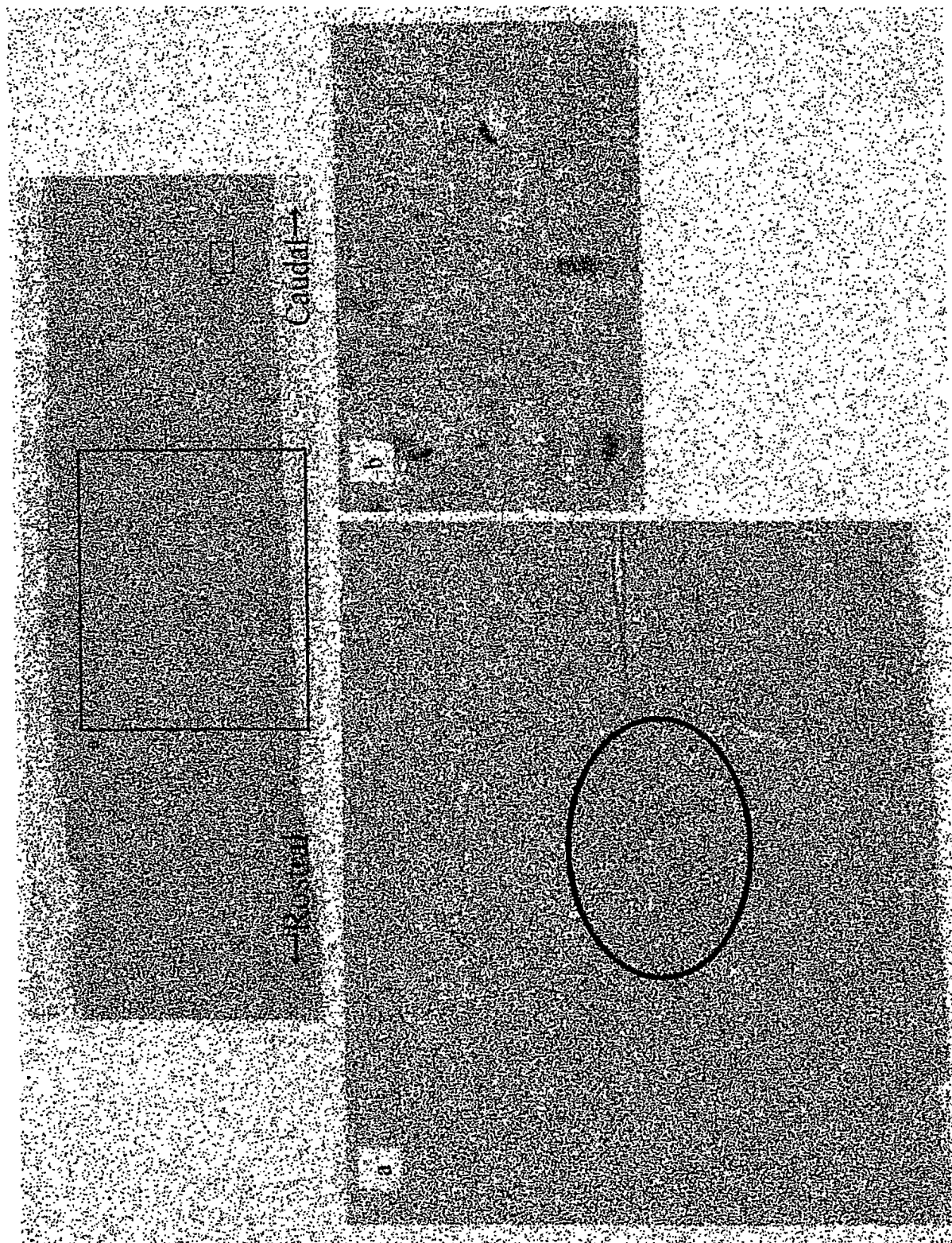
【図 4】



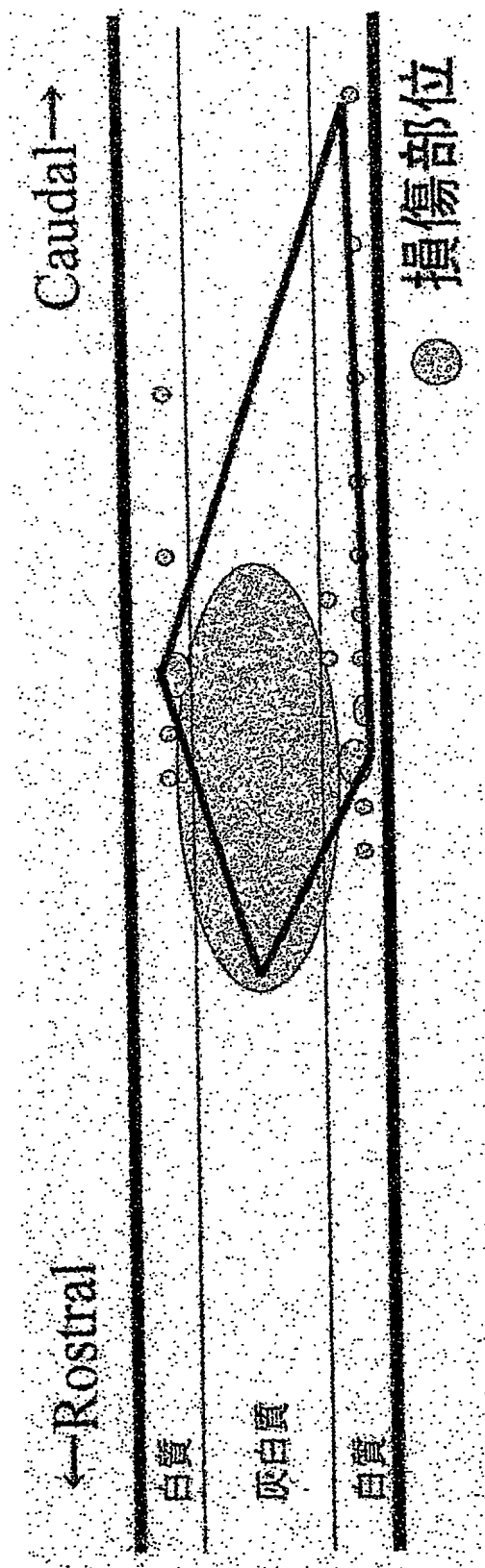
【図 5】



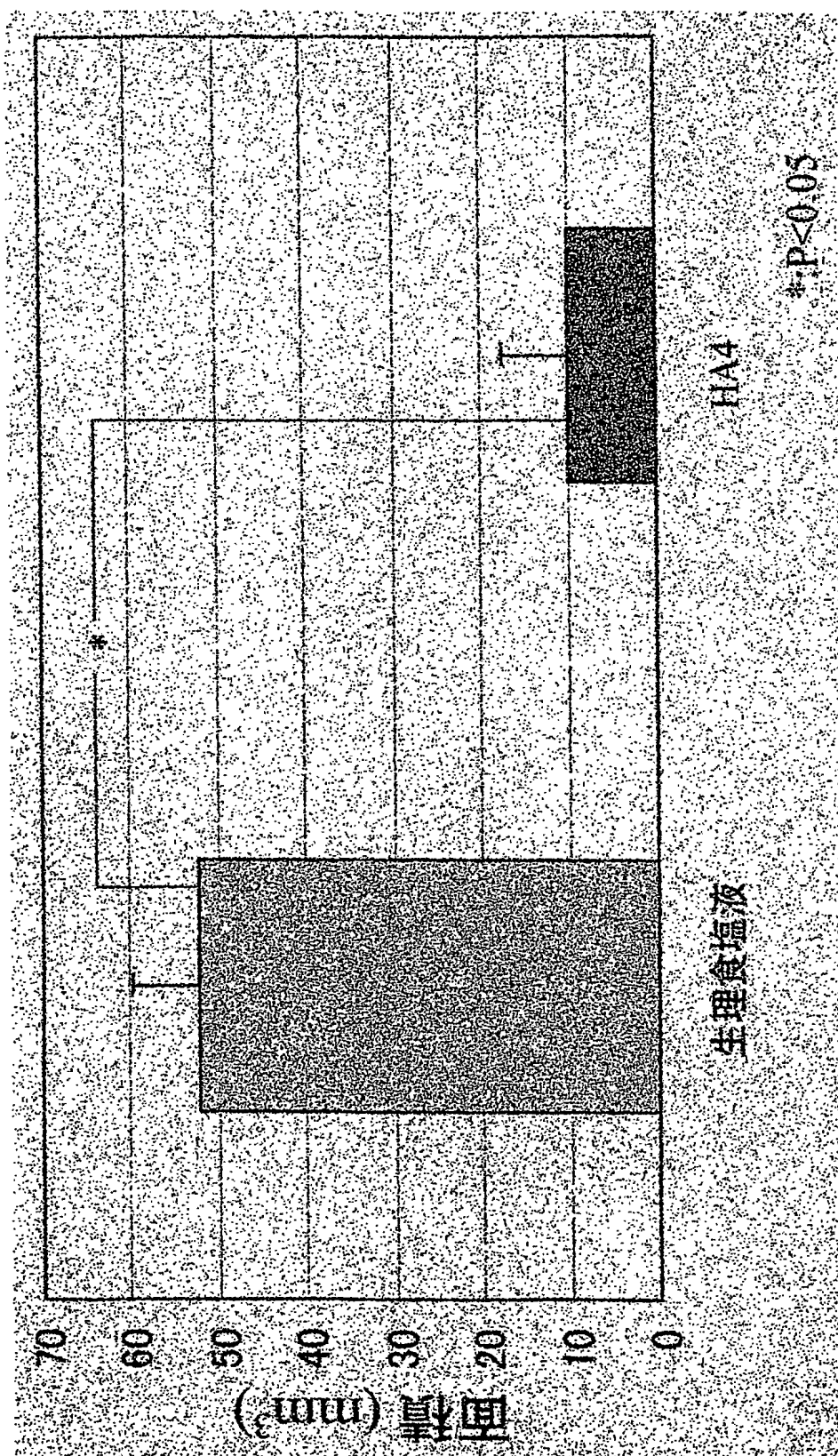
【図 6】



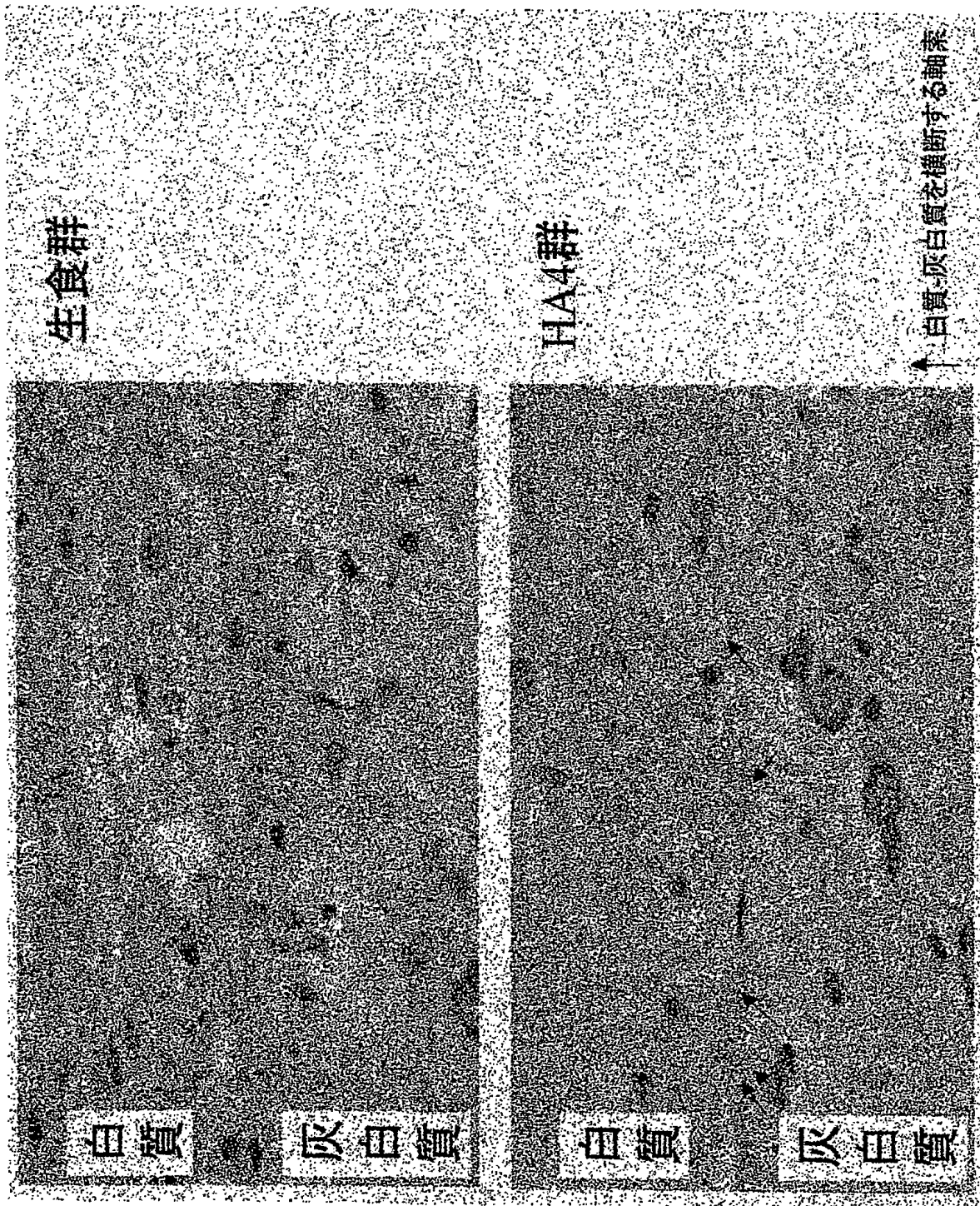
【図7】



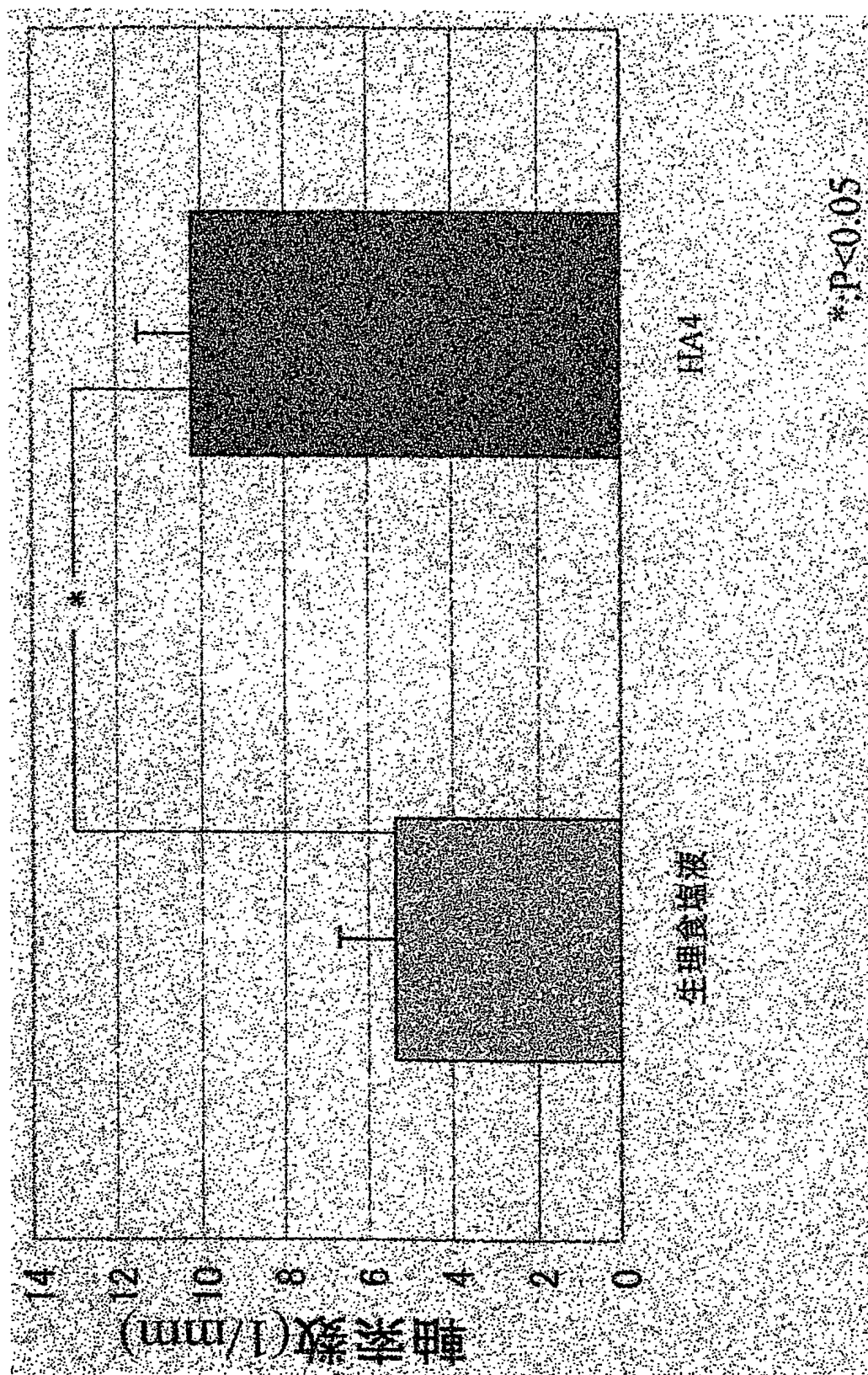
【図 8】



【図9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 安全で有用な神経障害処置剤を提供する。

【解決手段】 グルクロン酸及び／若しくはN-アセチルグルコサミンを少なくとも構成糖とする低分子量の糖又はその薬学的に許容される塩を有効成分とする、神経障害処置剤。

「グルクロン酸及び／若しくはN-アセチルグルコサミンを少なくとも構成糖とする低分子量の糖」は、低分子量ヒアルロン酸であることが好ましい。また「低分子量ヒアルロン酸」はヒアルロン酸2糖～ヒアルロン酸2500糖であるものが好ましく、ヒアルロン酸2糖～ヒアルロン酸50糖であるものがより好ましく、ヒアルロン酸4糖であるものが特に好ましい。

また、適用される神経障害は、脊髄損傷又は神経の外傷によるものが好ましい。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-083831
受付番号	50300485240
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成15年 3月26日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成15年 3月25日
-------	-------------

次頁無

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000195524]

1. 変更年月日

1990年 8月20日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都中央区日本橋本町2丁目1番5号

氏 名

生化学工業株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.